

Aus dem Pathologischen Institut
der Freien Universität Berlin im Städt. Krankenhaus Westend
Direktor: Professor Dr. med. Wilhelm Maßhoff

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE RESORPTION VON
ANTIGENEM EIWEISS AUS DER HAUT
SENSIBILISIRTER UND NICHTSENSIBILISIRTER KANINCHEN

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Christian Witte
aus Ratibor / O.S.

1968



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Pathologischen Institut
der Freien Universität Berlin
im Städt. Krankenhaus Westend
Direktor: Professor Dr. med. Wilhelm Meßhoff

Untersuchungen über die Resorption von anti-
genem Eiweiß aus der Haut sensibilisierter
und nichtsensibilisierter Kaninchen.

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Christian Witte
aus Ratibor /O.S.

Dekan: Professor Dr. med. Hans Wolfgang S p i e r

Referent: Professor Dr. med. Wilhelm M a B h o f f

Korreferent: Priv.Doiz.Dr.med. Franz K l a s s c h k a



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin.

Promoviert am: 24. Mai 1968

Meiner Frau

Inhaltsverzeichnis:

	Seite
I Einleitung: Problemstellung und Ziel der Arbeit	1
II Material und Methoden	7
III Ergebnisse:	
a) Agargel - Diffusion (Ouchterlony)	12
b) Immunelektrophorese	17
c) histologische Untersuchung	18
IV Diskussion	20
V Zusammenfassung	23
VI Literatur	

I Einleitung

Die Frage nach dem Schicksal inkorporierten Antigens beim sensibilisierten und nichtsensibilisierten Tier ist seit langem vor allem experimentell zu klären versucht worden. Entsprechende Untersuchungen haben sich mit dem Abtransport und mit dem Abbau des Antigens, mit dem Ablauf der Antigen-Antikörper-Reaktionen und mit den Kreislaufveränderungen am Injektionsort beschäftigt.

So hat Rössle schon 1914 sensibilisierten und normalen Meerschweinchen Hühnerblut subcutan appliziert und das Schicksal des Hämatoms histologisch verfolgt. Die Resorption, das heißt die Beseitigung der Hühnerythrocyten war beim Immuntier dabei meist schlechter als beim Normaltier. Rössle's Schüler Fröhlich (1914) untersuchte die Auswirkungen der lokalen Applikation von flüssigen und getrockneten homologen Seren auf das Mesenterium vorbehandelter und nicht vorbehandelter Frösche im Cohnheimschen Versuch und fand als "anaphylaktische Symptome" Vasodilatation, Praestase und Stase sowie Blutdruckabfall. Diese Symptome traten zwar beim Normaltier z.T. auch auf, waren jedoch schwächer ausgeprägt. Beim Immuntier kam es durch Gefäßsperrung und abkapselnde Entzündung zu einer Isolierung des Giftherdes. In dieser Abriegelung des injizierten Materials gegenüber dem gesunden Gewebe und der dadurch bedingten Resorptionsverlangsamung sah Rössle ein besonderes Merkmal der hyperergischen Entzündung und wertete es als funktionelles nicht als morphisches Symptom.

In seinen Versuchen über die Umstimmung der Gewebsreaktion nach wiederholter Injektion von arteigenem Eiweiß hat Letterer (1931) die Resorption intraperitoneal und subcutan injizierten Eigenblutes und artgleichen

Spenderblutes beim Meerschweinchen makroskopisch und histologisch verfolgt und ist zu dem Ergebnis gekommen, daß eine Einzelinjektion arteigenen Eiweißes bereits eine Umstimmung des Organismus hervorrufen kann, und daß die so erzeugte Allergie prinzipiell derjenigen mit artfremdem Protein zu erzielenden gleich sei und sich nur in der Stärke von dieser unterscheide.

Während die Resorption intraperitoneal injizierten arteigenen Eiweißes bei der zweiten Injektion, also nach eingeleiteter Umstimmung des Organismus, makroskopisch etwas verzögert schien (bei Tieren, die Eigenblut bekommen hatten, fand sich nach 3 Tagen noch seröse Flüssigkeit in der Bauchhöhle im Gegensatz zur Erstinjektion; blutig-seröse Flüssigkeit ließ sich bei der Zweitinjektion artgleichen Spenderblutes noch nach 5 bis 7 Tagen nachweisen, während es bei der Erstinjektion nach 6 Tagen verschwunden war), war die Resorption subcutan injizierten Eigen- und Spenderblutes bei der zweiten Injektion nicht verzögert, die Blutabgrenzung dagegen viel markanter. Histologisch ließ sich bei der zweiten Subcutaninjektion eine deutliche Zellreaktion nachweisen, die bei den Tieren nach Zufuhr von Spenderblut im Gegensatz zu den Eigenbluttieren erst 2 bis 3 Tage später auftrat.

Alles in allem waren die Unterschiede zwischen normergischer und hyperergischer Reaktion lediglich graduell nicht aber prinzipiell von den sonst bekannten entzündlichen und resorptiven Leistungen verschieden.

Opie (1923) konnte nachweisen, daß intracutan injiziertes Antigen beim unbehandelten Tier bald nach der Injektion im strömenden Blut auftritt, während es beim immunisierten Tier mit zunehmendem Grad der Sensibilisierung serologisch nicht mehr nachweisbar ist. In die-

sem Falle soll nach Vogt (1959) ein Teil des Fremdeiweißes als unlösliches Antigen-Antikörper-Präzipitat am Injektionsort niedergeschlagen werden.

Korngold und Mitarbeiter (1953) haben das Verhalten von ^{131}J -markiertem Antigen in der Haut sensibilisierter und normaler Kaninchen (durch Messung der Radioaktivität an der Injektionsstelle mit dem Geigerzähler) untersucht und bei den sensibilisierten Tieren eine größere Retention von Radioaktivität als bei den Kontrolltieren gefunden. 50% der Aktivität waren bei den immunisierten Tieren nach 13 Stunden, bei den Kontrolltieren dagegen nach nur $6\frac{1}{2}$ Stunden nachweisbar.

Interessant ist in diesem Zusammenhang, daß gegen γ -Globulin (vom Rind) immunisierte Tiere dann eine gleich hohe Antigenretention zeigten, wenn mit der ^{131}J -Albumin-Injektion das spezifische Antigen gegeben wurde und ein Arthus-Phänomen sich entwickelte, während sich sonst das immunisierte Tier wie ein Normaltier verhielt. Als Ursache dieses auffälligen Befundes wird von den Autoren das abnorme Verhalten des Gewebes beim Arthus-Phänomen diskutiert.

Menkin (1930) untersuchte die Fixation von Fremdeiweiß am Ort der Entzündung und kam zu ähnlichen Ergebnissen. In eine entzündlich veränderte Peritonealhöhle injiziertes Pferdeserum ging langsamer in den Blutstrom über, als wenn es in eine nicht entzündete Höhle eingebracht wurde. Es blieb andererseits nach Injektion in einen durch eine Arthusreaktion entzündlich veränderten Hautbezirk länger in situ, als wenn es in eine entzündlich veränderte Peritonealhöhle appliziert wurde.

Durchblutungsstörungen am Kaninchenohr bei allgemeiner

und lokaler Anaphylaxie untersuchte Iijima (1957) mit intravitalen Photogrammen. Als initiales Symptom kam es bei den sensibilisierten Tieren innerhalb von Sekunden nach der Reinjektion zur spastischen Kontraktion der Arterien, die insbesondere beim Arthus-Phänomen intensiver und von längerer Dauer war. Die Dauer der arteriellen Kontraktion ging etwa mit dem Grad der Sensibilisierung parallel und hielt bis zu einer Gesamtzeit von maximal zwei Stunden an. Beim normergischen Tier waren Ausmaß und Dauer der Vasokonstriktion geringer.

Weitere Autoren (Lindlar und Vogt, 1960 u. 1962; Sorokin and Boyden, 1959; Cochrane und Mitarbeiter, 1959) beschäftigten sich mit der Frage des Antigenabbaues in vivo und in vitro. Lindlar und Vogt konnten zeigen, daß intracutan injiziertes Fremdeiweiß bis zur Stufe der Aminosäuren gespalten wird. Diese Spaltung verläuft in der Haut sensibilisierter und normaler Kaninchen qualitativ gleich, wesentliche quantitative Unterschiede konnten nicht festgestellt werden. Die Proteolyse setzt in der Haut schon zu einer Zeit ein, zu der noch keine Zellemigration am Injektionsort eingetreten ist. Diese war nach einer Stunde sicher in Gang und nach zwölf Stunden noch nicht abgeschlossen.

In-vitro-Versuche derselben Autoren ergaben dagegen eine stark intensivierte Proteolyse von Antigeneiweiß durch Vollblut eines sensibilisierten Tieres gegenüber Normalblut und Serum vom Kontrolltier sowie gegenüber Serum eines immunisierten Tieres allein. Für die gesteigerte Proteolyse werden demnach zwei Faktoren, nämlich die Gegenwart von Zellen und von spezifischem Antikörper für erforderlich gehalten. Der Antigenabbau

geht im übrigen auch in vitro stets bis zur Stufe der Aminosäuren.

Zu gleichen Ergebnissen kamen auch Sorkin und Boyden bei ihren Untersuchungen über den Antigenabbau in vitro. Sie konnten darüberhinaus zeigen, daß der Antigenabbau dann wesentlich gesteigert ist, wenn das Kaninchenserum außer dem Antikörper noch Monozyten enthält, die aus der Bauchhöhle von Meerschweinchen gewonnen waren. In Gegenwart des Antikörpers allein oder beim Fehlen desselben ist der Antigenabbau dagegen viel geringer.

Die Rolle der polymorphkernigen Leukozyten beim Arthus-Phänomen haben Cochrane und Mitarbeiter mit Hilfe fluoresceinmarkierter Antikörper zu prüfen versucht. Danach erfolgt ein Antigenabbau in den Leukozyten zu rund 50% in den ersten 24 Stunden, und im direkten Zusammenhang mit der Verminderung von Antigen setzt ein Abklingen der entzündlichen Reaktion ein. Bei mit Stickstofflost leukopenisch gemachten Tieren dagegen bleibt der Antigen-Antikörper-Komplex am Injektionsort liegen.

Schließlich sei noch auf Untersuchungen von Letterer (1958) hingewiesen, der die Resorptionsverzögerung intracutan injizierten Antigens bei sensibilisierten gegenüber nichtsensibilisierten Tieren auf dem Wege der Hautherdelution und der elektrophoretischen Darstellung im Blut untersuchte. Letterer fand eine Verlangsamung der Resorption des injizierten Fremdproteins bei gegen dieses Eiweiß sensibilisierten Tieren. Die Resorptionsverzögerung verläuft parallel zur Höhe des Präzipitintiters, was auf die durch eine Strömungsverlangsamung bedingte Kreislaufirritation beim Arthus-Phänomen zurückgeführt wird.

Mit der vorliegenden Arbeit wurde versucht, die von Letterer durchgeführten elektrophoretischen Untersuchungen zu ergänzen, indem wir die Resorption intracutan applizierten Antigens vom Rind, und zwar kombiniert Albumin und γ -Globulin bei gegen diese Proteine verschieden stark sensibilisierten und bei normergischen Kaninchen semiquantitativ bestimmten. Im Eluat aus den Hautherden sollte der Verbleib des Fremdeiweißes bis zu 72 Stunden nach der Injektion durch spezifische Präzipitation gegen entsprechende Antisera im Agardiffusionstest nach Ouchterlony überprüft werden.

Derartige Untersuchungen sind unseres Wissens bisher nicht durchgeführt worden, in der zugänglichen Literatur sind jedenfalls entsprechende Hinweise nicht zu finden.

Außerdem wurden die antigenthaltigen Eluate zur weiteren Kontrolle einer Immunelektrophorese unterworfen. Schließlich wurden Hautproben vom Ort der Injektion histologisch untersucht, um den Eintritt der hyperergischen Entzündung und u.U. ihren Grad bei den immunisierten Tieren zu kontrollieren und mit den Kontrolltieren zu vergleichen.

Mit dieser Arbeit haben wir uns also der immer wieder interessierenden Frage nach der Resorptionsgeschwindigkeit antigenen Eiweißes beim immunisierten und nicht-immunisierten Tier zugewendet, und ihre Beantwortung mit einer bisher noch nicht für diesen Zweck eingesetzten Methode zu erreichen versucht.

II Material und Methoden

In der Tabelle 1 ist die Versuchsanlage zur besseren Übersicht zusammengestellt.

Die Versuche wurden an insgesamt 12 Kaninchen mit einem Gewicht zwischen 1,65 und 3,1 kg (Durchschnittsgewicht 2,38kg) durchgeführt. 7 Tiere wurden sensibilisiert, 5 Tiere dienten als Kontrollen.

Die Sensibilisierung erfolgte gleichzeitig mit einer 10%igen Albumin- und γ -Globulinlösung vom Rind. Beide Proteinfractionen wurden als Trockensubstanz von den Behringwerken bezogen. Von jedem Antigen wurde eine 10%ige Suspension in physiologischer NaCl-Lösung hergestellt. Bei 3 Tieren wurde das Fremdeiweiß ausschließlich intravenös zugeführt, bei je 2 Tieren kombiniert i.v. und intraperitoneal sowie intramuskulär und intraperitoneal jeweils in steigender Dosierung. Die Sensibilisierung erstreckte sich über durchschnittlich 4 Wochen. Bei den Tieren 21 und 22 wurden nach einer Pause von 10 Wochen noch je 3 intraperitoneale "Auffrischungs"-Injektionen in steigender Dosierung verabfolgt. Die Titerhöhe wurde in einer Verdünnungsreihe bestimmt.

Bei allen 7 Tieren wurde eine Sensibilisierung gegen γ -Globulin erzielt, die Präzipitationstiter schwankten, wie aus Tab.1 ersichtlich, zwischen 1:1024 und 1:64000. Eine Antikörperbildung gegen Albumin wurde dagegen nur bei 3 Tieren erreicht, die entsprechenden Titer betrugen 1:64, 1:2000 und 1:32000. Die unterschiedliche Antikörperbildung bei mit Albumin und γ -Globulin vorbehandelten Tieren hat schon Scheiffarth (1960) beobachtet. In seinen Versuchen, in denen er Kaninchen - im Gegensatz zu uns allerdings getrennt - gegen Humanalbumin und γ -Globulin vom Rind sensibilisierte,

zeigten die mit Albumin vorbehandelten Tiere bei gleicher Versuchsanordnung und gleichem Sensibilisierungsmodus gegenüber dem mit Globulin vorbehandelten Kollektiv ebenfalls eine später einsetzende und relativ schwächere Bildung von Antikörpern, die sich zudem auch nicht bei allen Tieren einstellte. Scheiffarth diskutiert als Ursachen dieser unterschiedlichen immunisierenden Aktivität Unterschiede in der Eiweißstruktur und im Gehalt an Kohlenhydraten bei Albumin und Globulin. Bei gleichzeitiger Einwirkung von 2 Antigenen, die hinsichtlich ihres sensibilisierenden Effektes auf den Organismus verschieden sind, kann darüber hinaus eine partielle oder totale Unterdrückung des schwächer wirkenden Stoffes auftreten.

Nach der Sensibilisierung wurde das Fremdprotein in folgender Weise appliziert: 5 immunisierte und 3 Kontrolltiere erhielten intracutan 2 x je 4ccm einer 10%igen Albumin- und 2 x je 4ccm einer 10%igen γ -Globulinlösung vom Kind an zwei entsearten Hautstellen auf jeder Flanke. Die auf diese Weise gesetzten insgesamt 4 Quaddeln wurden in je 4 Sektoren eingeteilt, sodaß auf jeden Sektor bei vorausgesetzter gleichmässiger Verteilung eine Antigenmenge von rund 1ccm entfällt.

30 Minuten, 1,3,6,9,12,24 und 36 Stunden nach der Injektion wurde je ein Sektor mit Albumin und Globulin als Antigenen entnommen.

Bei zwei weiteren Kontrolltieren wurden Einzelinjektionen von je 1ccm Antigen an 4 Stellen auf jeder Flankenseite vorgenommen. Auf diese Weise sollte eine mögliche mechanische Beeinträchtigung der Haut durch die Sektoreneinteilung umgangen werden. Diese Quaddeln wurden nach 30 Minuten, 6,24 und 36 Stunden ausgeschnit-

ten.

Die sensibilisierten Tiere 23 und 25 (siehe Tabelle) erhielten ebenfalls Einzelinjektionen von je 1 ccm Fremdeiweiß an 3 Hautstellen auf jeder Flanke. Diese Hautbezirke wurden nach 24, 48 und 72 Stunden entnommen, um den weiteren Verlauf der Resorption zu verfolgen.

Die Hautstücke wurden sofort nach der Entnahme gewogen und auf dem Gefriermikrotom durch 10 μ dicke Schnitte zerkleinert. Sie wurden anschließend 24 bis 48 Stunden in physiologischer Kochsalzlösung eluiert, wobei für jedes Hautstück unabhängig von dessen Gewicht 1 ccm NaCl-Lösung verwendet wurde. Danach wurde das Eluat durch Zentrifugieren bei 4-5000 U/min. über 5 Minuten von der Haut getrennt.

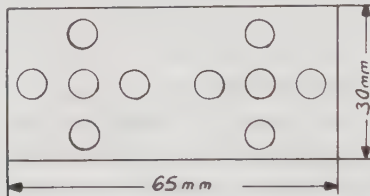
Die so gewonnenen Eluate wurden im Agardiffusionstest nach Ouchterlony gegen spezifische Antiseren (Anti- γ -Globulin- und Anti-Albuminseren vom Kaninchen) präzipitiert. Diese Antiseren haben wir selbst hergestellt, indem wir Tiere mit entsprechend hohen Antikörpertitern in Narkose entbluteten.

Ursprünglich galt dieser Agarplattentest als analytisches Verfahren, nicht als quantitative Bestimmungsmethode. Durch die von Feinberg 1956 entwickelte Endpunktmethode ist es jedoch gelungen, diese Technik für semiquantitative Bestimmungen anzuwenden. Dabei wird eine Verdünnungsreihe der Proben aufgestellt und jeweils die höchste Verdünnung der Probe und der Standardmischung - in unserem Falle also der reinen Proteinlösung - notiert, bei der der letzte Präzipitatbogen erkennbar ist. Dieser Methode haben wir uns ebenfalls bedient.

Die Platten wurden 24 Stunden bei Zimmertemperatur in

einer feuchten Kammer belassen und dann abgelesen. Dabei wurde die höchste Verdünnungsstufe des jeweils untersuchten Hauteluates im Vergleich zur reinen Proteinnlösung notiert, bei der die Präzipitatlinie derart abgeschwächt war, daß sie bei der folgenden Verdünnung verschwand.

Unser Vorgehen soll im einzelnen an einem Beispiel erläutert werden: Objektträger werden mit flüssigem Agar (1,5%iger Special-Agar Noble-Difco) beschickt, nach dessen Erstarrung auf dem Objektträger insgesamt 10 Löcher in folgender Anordnung ausgestanzt:



Der Durchmesser des einzelnen Loches beträgt 6 mm, der Abstand der äußeren vom zentralen Loch 10 mm. Das Zentrum wird jeweils mit dem entsprechenden Antiserum beschickt, während in die äußeren Löcher in steigender Verdünnung mit physiologischer NaCl-Lösung (Verdünnungsreihe 1:2 bis 1:32000) die Kluste bzw. zur Kontrolle reine Proteinnlösung eingebracht werden.

Zur Kontrolle wurden ferner bei 3 Tieren (2 immunisierten und einem Normaltier) "leere", entsprechend weit vom Ort der Fremdeiweißinjektion entfernte Hautstellen vor und nach der Antigenapplikation entnommen und ihre Kluste in gleicher Weise gegen Anti-Albumin- und Anti-Globulinserum präzipitiert. Mit die-

sen Leerkontrollen wollten wir einmal (Hautentnahme vor Antigeninjektion) die Bildung sog. falscher Präzipitatbögen ausschließen. Die Untersuchung der Hauteluate nach Antigenapplikation sollte zum anderen eine mögliche Verteilung des Fremdproteins im Organismus aufzeigen.

Die Eluate von 6 sensibilisierten und 4 Kontrolltieren wurden außerdem einer Elektrophorese im Agargel unterworfen: 1,5%iger Special-Agar Noble (Difco) auf Objektträger Schichtdicke 1,5 mm. Veronalnatriumazetatpuffer pH 8,6; Ionenstärke 0,025; 6,5 V/cm für 70 min. bei 22 Grad C. Nach Abschluß der Elektrophorese wurden die gewanderten Eiweißfraktionen jeweils zweier Eluate einer immunchemischen Untersuchung in der Weise unterzogen, daß ein Agarstreifen vom oberen und unteren Rand der Platte abgetrennt, auf einem anderen Objektträger neu mit Agar umgossen und von einer zentral verlaufenden Antikörperrinne aus gegen die spezifischen Antisera präzipitiert wurde.

Die Platten wurden nach Fixierung in Essigsäure gewässert, über Nacht im Brutschrank bei 37 Grad C getrocknet und 3 Stunden mit Amidoschwarz gefärbt.

Hautproben vom Ort der Antigeninjektion bei 5 sensibilisierten Tieren mit verschieden hohem Titer und bei 3 Kontrolltieren wurden schließlich 30 Minuten bis 72 Stunden nach der Albumin- und Globulininjektion entnommen und histologisch untersucht.

III Ergebnisse

a) Agargel - Diffusion (Ouchterlony)

Die entsprechenden Ergebnisse sind in den graphischen Darstellungen 1 - 6 wiedergegeben. Auf der Abszisse ist die Zeit nach der Antigeninjektion in die Haut, auf der Ordinate die Verdünnung der Eluate aufgetragen, bei der sich der letzte Präzipitatbogen darstellt. Zum Vergleich ist jeweils als Standardlösung das reine Protein (10%ige Albumin- und γ -Globulinlösung vom Rind) herangezogen worden.

Der letzte Präzipitatbogen findet sich bei der Standardlösung fast ausschließlich bei einer Verdünnung von 1:32000. In der graphischen Darstellung 1 sind die Mittelwerte von 7 immunisierten und in der 2. von 5 Kontrolltieren aufgetragen. Diese Darstellungen lassen zunächst erkennen, daß Albumin- und Globulinkurven bei den beiden Tiergruppen parallel verlaufen, daß also in der Resorption der beiden Proteine keine wesentlichen Unterschiede bestehen.

Weiter läßt sich ein entscheidender Unterschied in der Resorption von Fremdeiweiß zwischen sensibilisierten und normalen Kaninchen nicht nachweisen. So findet sich 30 min. nach der Injektion von Albuminlösung im Hauteluat der immunisierten Tiere der letzte erkennbare Präzipitatbogen bei einer Eluatverdünnung von etwas über 1:8000, bei den Kontrolltieren von 1:8000 (Standardlösung 1:32000). 36 Stunden nach Injektion ist bei beiden Gruppen Albumin bis zu der gleichen Eluatverdünnung von etwas unter 1:128 nachweisbar. Dazwischen ist der Kurvenverlauf fast gleich, lediglich bei den sensibilisierten Tieren ist bis zur 6. Stunde ein etwas steilerer Abfall zu

registrieren. (Darstellung 1)

Bei der Resorption von Globulin liegen die Verhältnisse zwischen beiden Tiergruppen ähnlich, wenn die Kurven auch nicht ganz so gut übereinstimmen. 30 min. nach Injektion erscheint der letzte Präzipitatbogen bei den sensibilisierten Tieren bei einer Eluatverdünnung etwas unter, bei den Kontrolltieren etwas über 1:4000. Der Unterschied beträgt etwa eine halbe Verdünnungsstufe. Nach 36 Stunden ist γ -Globulin bei den Immuntieren bis zu einer Eluatverdünnung von 1:32, bei den Kontrollen erst bei zwei weiteren Verdünnungsstufen nachweisbar. 3, 12 und 24 Stunden nach der Injektion beträgt der Unterschied jeweils etwa eine Verdünnungsstufe, nach 1, 6 und 9 Stunden finden sich praktisch gleiche Werte.

Der Kurvenanstieg zwischen 6 und 9 Stunden nach der Antigensapplikation dürfte auf unserer Methode der Sektoreneinteilung der Haut beruhen: bei 8 von den insgesamt 12 Tieren haben wir die bei der intracutanen Injektion entstehenden Quaddeln in je 4 gleichgroße Sektoren eingeteilt, die nach den aus den Kurven und aus dem Versuchsplan ersichtlichen Zeitspannen ausgeschnitten worden sind. Auf diese Weise war der nach 6 Stunden entnommene Sektor der letzte der einen, der nach 9 Stunden entfernte der erste der neuen Quaddeln. So dürften sich Unterschiede in der vorhandenen Fremdeiweißmenge ergeben haben, die wohl auf geringe Verluste durch mechanische Beeinträchtigung infolge der Manipulationen beim Excidieren zurückzuführen sind. Dieser Fehler dürfte jedoch bei allen 8 Tieren sowohl nach Albumin- als auch nach Globulininjektion konstant sein.

Er tritt jedoch nicht in Erscheinung bei den restli-

chen 4 Tieren, bei denen Einzelinjektionen in entsprechend geringerer Menge vorgenommen wurden, um die Sektoreneinteilung zu umgehen und dadurch den mechanisch bedingten Fehler auszuschalten.

Bei zwei sensibilisierten Tieren wurde die Resorption bis zu 72 Stunden weiter verfolgt. Die Mittelwerte sind ebenfalls der graphischen Darstellung 1 zu entnehmen. Man erkennt einen weiteren gleichmäßigen Kurvenabfall, wobei das letzte Albumin und Globulin gleichermaßen bei einer Blutverdünnung zwischen 1:16 und 1:32 nach 72 Stunden nachweisbar sind.

Bei einem Vergleich der Mittelwerte dieser beiden Tiere mit denen der anderen Immuntiere ergibt sich eine gute Übereinstimmung bei 24 und 36 Stunden, wobei lediglich der Globulinmittelwert der 5 Tiere nach 36 Stunden mit zwei niedriger liegenden Verdünnungsstufen (1:32) auffällt, der ja auch bei dem Vergleich mit den Kontrolltieren schon hervortritt.

Nach den graphischen Darstellungen 3 und 4, auf denen die Resorption von Albumin und Globulin für jedes sensibilisierte Tier getrennt aufgetragen ist, bleibt die Titerhöhe ohne Einfluß auf die Resorptionsgeschwindigkeit. So verlaufen beispielsweise die Kurven der Geschwistertiere 371 und 374 fast übereinstimmend, obwohl Tier 374 einen hohen Anti-Albumintiter (1:32000), Tier 371 dagegen nur wenig Anti-Albumin-Antikörper gebildet hatte. Ganz ähnlich verhält es sich mit den beiden Tieren 374 und 21, obwohl das mit Albumin vorbehandelte Tier 21 keine nachweisbaren Antikörper gebildet hatte. Auch die Kurven der vorbehandelten Tiere 22 (Anti-Albumintiter 1:2000) und 24 (keine Antikörperbildung) zeigen einen weitgehend übereinstimmenden Verlauf.

Auch bei einem Vergleich der vorbehandelten Tiere mit verschieden hohem Titer mit den Kontrolltieren (graphische Darstellungen 5 und 6) stellt sich heraus, daß die Titerhöhe ohne Einfluß auf die Resorptionsschwindigkeit bleibt (Tiere 374 und 26 sowie 22 und 76).

Die Verhältnisse bei der Globulinresorption liegen ähnlich. Hier verlaufen z.B. die Kurven der Tiere 22 und 24 (Geschwistertiere, Anti-Globulintiter 1:32000 und 1:8000) weitgehend übereinstimmend.

Die Kurven der Tiere 374 und 21 differieren 36 Stunden nach der Globulininjektion lediglich um zwei Verdünnungsstufen trotz einer unterschiedlich starken Antikörperbildung (entsprechende Titer 1:32000 und 1:1024). Hierzu ist aber zu bemerken, daß sich bei Tier 21 mit den Zeichen einer weniger starken Sensibilisierung nach 36 Stunden relativ mehr Fremdeiweiß im Hauteluat nachweisen ließ. Schließlich seien noch die Befunde bei den Geschwistertieren 23 und 25 (Anti-Globulintiter 1:16000 bzw. 1:64000) erwähnt, bei denen sich Globulin nach 72 Stunden bis zu einer Verdünnung des Eluats von 1:32 und 1:16 findet.

Bei den sensibilisierten Tieren fällt insgesamt 36 Stunden nach Injektion ein um mehrere Verdünnungsstufen stärkerer Unterschied gegenüber den recht konstanten Werten bei den Kontrolltieren auf. Bei den beiden hochsensibilisierten Tieren 371 und 374 überrascht der starke Kurvenabfall auf Verdünnungsstufen von 1:4 und 1:8. Daraus ist auf einen relativ geringen Globulingehalt der Haut 36 Stunden nach der Injektion zu schließen.

Zusammenfassend ist festzustellen, daß die Titerhöhe der Immuntiere auf die Antigenresorption keinen Ein-

fluß hat.

Es sei noch bemerkt, daß das Gewicht der sofort nach dem Ausschneiden gewogenen Hautstücke den Kurvenverlauf nicht beeinflußt, daß also Fremdeiweißgehalt und Hautgewicht nicht parallel zu laufen brauchen. So konnten wir mehrfach einen höheren Fremdeiweißgehalt bei niedriger werdendem Hautgewicht und umgekehrt beobachten.

Bei 3 Tieren haben wir zur weiteren Kontrolle ein "leeres", vom Ort der Antigeninjektion entferntes Hautstück vor und nach der Eiweißapplikation entnommen und die Eluate ebenfalls gegen Anti-Albumin- und Anti-Globulinseren präzipitiert.

Bei Tier 25 (sensibilisiert, Hautentnahme vor Antigeninjektion) ließ sich im Eluat weder Albumin noch Globulin nachweisen. Damit können wir die Bildung sog. falscher Präzipitatbögen ausschließen. Im Eluat von Tier 23 (sensibilisiert, Hautentnahme kurz nach Antigeninjektion) fand sich kein Globulin, dagegen waren schwache Präzipitatbögen gegen Anti-Albuminserum bei einer Eluatverdünnung von 1:2 und 1:4 erkennbar. Bei Tier 76 (Kontrolltier, Hautentnahme längere Zeit nach Antigeninjektion) schließlich fand sich Albumin bis zu einer Eluatverdünnung von 1:16 (schwache Präzipitatbögen), während sich auch hier Globulin nicht nachweisen ließ.

Diese Befunde lassen sich wohl so deuten, daß es nach der Fremdeiweißinjektion zu einer Antigenverteilung im Organismus kommen kann. Der nicht zu erbringende Nachweis von Globulin beruht möglicherweise auf dessen höherem Molekulargewicht.

b) Ergebnisse der Immunelektrophorese

Die Agargelelektrophorese erlaubt die Unterscheidung zwischen hauteigenem und zugeführtem Fremdeiweiß, wenn man die nach der Antigeninjektion gewonnenen Hauteluate mit denen der "leeren" Kontrollen vergleicht. Es läßt sich zeigen, daß mit zunehmender Antigenresorption die Konzentration des Fremdeiweißes in den unverdünnten Hautelusten sowohl der sensibilisierten als auch der Kontrolltiere in der Regel schwächer wird. Bei Tieren mit einer auch histologisch stärker nachweisbaren Exsudation, findet sich mit der Zeit zunehmend, d.h. mit längerem Abstand zwischen Hautentnahme und Antigeninjektion, eine Konzentrationsvermehrung im Globulinbereich.

Mit der angeschlossenen immunchemischen Untersuchung konnten wir anhand der Präzipitationsbögen nachweisen, wohin das zugeführte Fremdprotein während der elektrophoretischen Trennung gewandert ist.

Dabei ließen sich wesentliche Unterschiede zwischen immunisierten und normalen Tieren nicht erkennen.

Die Präzipitationsbögen, die bei den albuminhaltigen Elusten mehr bogenförmig, bei den globulinhaltigen dagegen mehr langgestreckt verlaufen, wurden mit zunehmender Dauer und damit bei geringerer Fremdeiweißkonzentration der Eluate bei allen Tieren kürzer, oft auch breiter.

Die Ergebnisse der Ouchterlony-Methode ließen sich insofern bestätigen, als auch bei der immunchemischen Untersuchung der Eluate nach elektrophoretischer Trennung der Eiweißfraktionen Albumin und γ -Globulin bei sensibilisierten und bei nichtsensibilisierten Tieren bis zu

einer Dauer von 36 Stunden, bei 2 weiteren Immuntieren bis zu 72 Stunden nach der Antigenapplikation nachweisbar sind.

c) Ergebnisse der histologischen Untersuchung

1) Haut der gegen γ -Globulin sensibilisierten Tiere:

Nach kurzfristiger Entnahme ist zunächst ein durch die Serumapplikation bedingtes Auseinanderweichen der Bindegewebsfasern zu beobachten. 6 Stunden nach der Globulininjektion findet sich eine ziemlich starke Leukozyteninfiltration, wobei die Leukozyten z.T. mantelförmig um die Gefäße angeordnet sind. Vereinzelt ist es bereits zu kleinen Hämorrhagien in der Umgebung von Gefäßen und zu einer Verquellung der Bindegewebsfasern gekommen. Bei einem Tier mit hohem Anti-Globulintiter sind die Kapillärwände verquollen. Die geschilderten Veränderungen sind bei den Tieren mit höherem Titer ausgeprägter.

Später tritt eine stärkere Exsudation auf, die Gefäßveränderungen treten deutlicher hervor; die Arterienlichtungen sind eng. Die Venen sind weit, zeigen Leukostasen und Thrombosen. Wandverquellungen und Hämorrhagien werden häufiger.

Nach 36 Stunden lassen sich neben einem starken Ödem Leukozyteninfiltrationen im Bereich der Gefäßwände und in den Interstitien der Hautmuskulatur nachweisen.

48 Stunden nach der Injektion finden sich herdförmige Wucherungen der ortsständigen Bindegewebszellen sowie stellenweise Nekrosen der Gefäßwand; nach 72 Stunden ist das Bild einer bindegewebebildenden Entzündung mit entsprechend starker histiogener Komponente ausgeprägter.

2) Haut, der Kontrolltiere nach Globulininjektion:

Hier steht vor allem eine mehr oder weniger starke Leukozyteninfiltration im Vordergrund, vereinzelt finden sich auch enger gestellte Arterien und weite Venen. 24 Stunden nach der Eiweißinjektion lassen sich vereinzelt Verquellungen der Bindegewebsfasern nachweisen, nach 36 Stunden auch Lymphozyten und gewucherte histiogene Zellen.

3) Haut der vorbehandelten und Kontrolltiere nach Albumininjektion:

Die Befunde sind grundsätzlich von gleicher Natur wie nach Globulininjektion, in ihrer Gesamtheit aber viel schwächer ausgeprägt. So fehlen beispielsweise die einer Vasculitis entsprechenden Gefäßveränderungen. Auch die Exsudation ist geringer oder kann sogar fehlen. Unterschiede im histologischen Befund von Kontrolltieren und vorbehandelten Tieren sind ebenfalls viel weniger deutlich ausgeprägt als bei der anderen Gruppe.

Der Grund hierfür dürfte darin zu suchen sein, daß von den 5 mit Albumin vorbehandelten Tieren, deren Haut einer histologischen Untersuchung unterzogen wurde, nur ein Tier Anti-Albumin-Antikörper gebildet hatte mit einem Titer von 1:2000. Bei diesem Tier waren die Veränderungen auch am deutlichsten ausgeprägt.

IV Diskussion

Die Resorption intracutan injizierten Fremdeiweißes aus der Haut sensibilisierter und nichtsensibilisierter Kaninchen ist nach Untersuchungen mit der semiquantitativen Methode der Agargelddiffusion und gemessen an der Aufnahme von Albumin und γ -Globulin beim entsprechend vorbehandelten gegenüber dem nichtvorbehandelten Tier bis zu einer Dauer von 72 Stunden nach der Injektion nicht verschieden.

Die Immunelektrophorese bestätigt dieses Ergebnis insofern, als bei diesem Vorgehen das Fremdeiweiß in den Eluatn aus Hautstücken der immunisierten wie normalen Tiere bis zu 72 Stunden nach der Injektion nachweisbar ist.

Unsere Befunde stehen in einem gewissen Gegensatz zu den Ergebnissen einiger in der Einleitung zitierter Arbeiten. Danach scheinen für das Schicksal eines inkorporierten Antigens beim sensibilisierten und normergischen Tier sowohl Abtransport wie Abbau als auch die Antigen-Antikörperreaktion selbst gleichermaßen eine Rolle zu spielen, ferner das Antigen beim immunisierten Tier länger am Injektionsort zu verweilen als beim Normaltier.

Letterer hat der durch die Kreislaufirritation bewirkten Strömungsverlangsamung bei der hyperergischen Entzündung eine wesentliche Bedeutung für die verlangsamte Resorption des injizierten Antigens beim sensibilisierten Tier zugesprochen. Fröhlich konnte diese Strömungsverlangsamung zwar nachweisen, seine Beobachtungen erstreckten sich jedoch nur auf einen relativ kurzen Zeitraum und verfolgten nicht die Resorption des Antigens, deren Verlangsamung Rössle auf Grund der Abriegelung des injizierten Materials angenommen,

aber quantitativ nachzuweisen nicht unternommen hat.

Iijima fand eine Vasokonstriktion nur bis zu maximal 2 Stunden nach der Reinjektion des Antigens. Dieser vasculäre Faktor dürfte also eine mögliche Resorptionsverlangsamung - wenn überhaupt - nicht allzu stark beeinflussen.

Letterer konnte an elektrophoretisch untersuchten Hautelasten zeigen, daß beim Normaltier 2 Stunden nach Injektion von 0,2 ml einer Lösung von Humanalbumin dieses aus der Haut verschwunden ist, während es beim sensibilisierten Tier je nach Titerhöhe noch nach 4 und 12 Stunden deutlich nachweisbar ist. Die Frage, inwieweit die Resorptionsverlangsamung nicht etwa aus einer lokalen Präzipitation des Antigen-Antikörperkomplexes resultiert, läßt Letterer offen. Ob die Strömungsverlangsamung wirklich eine wesentliche Rolle spielt, muß fraglich erscheinen, zumal nicht bekannt ist, bis zu welchem Grad die kapilläre Stase allein eine Resorption verhindern kann. Die Lymphgefäße bleiben wenigstens dort, wo sie nicht durch ein Ödem des umgebenden Gewebes komprimiert sind, offen und könnten einen Abtransport bewerkstelligen.

Nach Messungen radioaktiv markierten, intracutan injizierten Antigens am Injektionsort (Korngold und Mitarbeiter) retiniert das sensibilisierte Tier mehr als das Normaltier. Die Verfasser beziehen die mit ihrem Verfahren ermittelte Antigenretention auf eine Kombination mit Antikörpern am Injektionsort, wobei unterstellt wird, daß die Antikörper in relativ hoher Konzentration vorhanden sind. Die Titerhöhe der sensibilisierten Tiere ist allerdings nicht angegeben, son-

dern lediglich die Intensität des Arthus-Phänomens vermerkt. Es bleibt aber die Frage offen, ob die gemessene Radioaktivität beim sensibilisierten Tier gleichbedeutend mit einer Resorptionsverlangsamung des unveränderten Antigens ist, also des nicht am Injektionsort liegenbleibenden mit dem vorhandenen Antikörper einen Komplex bildenden Antigens, dessen Strahlung ja auch gemessen wird. Darüber hinaus wird u.E. ein Antigenabbau am Injektionsort beim immunisierten Tier nicht berücksichtigt. Was bei einem solchen Abbau mit dem radioaktiven Jod geschieht, ist nicht sicher bekannt. Es wäre aber durchaus möglich, daß es abgespalten wird und am Injektionsort eine Strahlung verursacht, die eine höhere Antigenretention vortäuscht.

In unseren Untersuchungen haben wir dagegen höchstwahrscheinlich nur das unveränderte Fremdeiweiß mit einer sehr empfindlichen Methode erfaßt, die einen etwaigen Abbau des Antigens und eine mögliche Antigen-Antikörperreaktion am Injektionsort unberücksichtigt lassen dürfte.

Daß das ursprüngliche Antigen tatsächlich resorbiert wird, glauben wir mit unseren Untersuchungen gezeigt zu haben.

V Zusammenfassung

Die Resorption intracuten injizierten Fremdeiweißes (Albumin und γ -Globulin vom Rind) bei gegen diese Proteinfractionen sensibilisierten und bei nichtsensibilisierten Kaninchen wurde semiquantitativ untersucht. Im Hauterdelust wurde das Fremdeiweiß durch spezifische Präzipitation gegen Antiseren im Agardiffusionstest nach Ouchterlony nachgewiesen. Ferner wurden die Hauteluats immunoelektrophoretisch untersucht und die Haut vom Injektionsort histologisch überprüft.

1) Mit der semiquantitativen Methode der Agardiffusion lassen sich Unterschiede in der Resorption von Fremdeiweiß beim sensibilisierten gegenüber dem Normaltier bis zu einer Dauer von 72 Stunden nach der Injektion nicht nachweisen.

2) Die Resorption von Albumin und γ -Globulin verläuft in gleicher Weise.

3) Die Höhe des Antikörpertiters hat keinen Einfluß auf die Resorptionsgeschwindigkeit.

4) Auch nach der elektrophoretischen Trennung der Eiweißfraktionen im Hautelust ist das Fremdeiweiß bis zu einer Dauer von 72 Stunden nach der Injektion bei sensibilisierten und bei Normaltieren nachweisbar.

5) Histologisch zeigt die Haut vom Injektionsort bei den sensibilisierten Tieren das übliche Bild der hyperergischen Entzündung, während bei den nicht vorbehandelten Tieren lediglich eine geringere Leukozyteninfiltration besteht.

Legenden zu den graphischen Darstellungen 1 - 6:

Zu 1: Mittelwerte aller sensibilisierten Tiere.

Es ist jeweils die Verdünnungsstufe der Hauteluat aufgezeichnet, bei der immer der letzte Präzipitatbogen gegen spezifische Antiseren erkennbar war. Die Hauteluat nach γ -Globulininjektion sind ausgezogen, nach Albumininjektion gestrichelt aufgezeichnet. Die Kontrolle der Standardlösung (reines Albumin und γ -Globulin) ist bei einer Verdünnung von 1:32000 aufgetragen.

Zu 2: Mittelwerte der Kontrolltiere, aufgetragen wie in Darstellung 1.

Zu 3: Einzeldarstellung der gegen Albumin sensibilisierten Tiere, Titer s. Tab. 1. Hauteluat nach Albumininjektion. Schwarz: Tier 21; schwarz gestrichelt: Tier 24; rot: Tier 22; rot gestrichelt: Tier 371; blau: Tier 374; blau gestrichelt: Tier 23; gelb: Tier 25.

Zu 4: Einzeldarstellung der gegen γ -Globulin sensibilisierten Tiere, Titer s. Tab. 1. Hauteluat nach Globulininjektion. Aufgetragen wie in Darstellung 3.

Zu 5: Einzeldarstellung der Kontrolltiere. Hauteluat nach Albumininjektion. Schwarz: Tier 76; schwarz gestrichelt: Tier 26; rot: Tier 75; rot gestrichelt: Tier 388; blau: Tier 387.

Zu 6: Einzeldarstellung der Kontrolltiere. Hauteluat nach Globulininjektion. Aufgetragen wie in Darstellung 5.

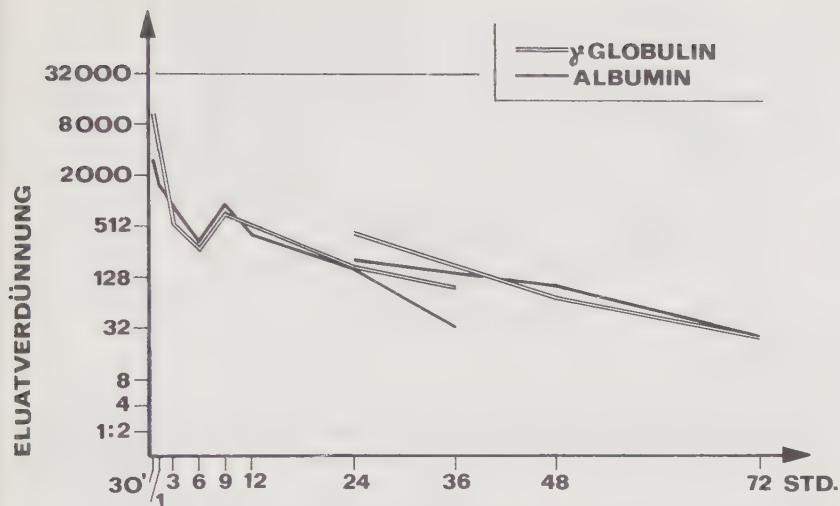


Abb. 1: Mittelwerte aller gegen Albumin und Globulin sensibilisierten Tiere. Es ist jeweils auf der Ordinate die Verdünnungsstufe der Hauteluate aufgezeichnet, bei der immer der letzte Präzipitatbogen gegen spezifische Antiseren erkennbar war. Die Standardlösung (reines Albumin und γ -Globulin) ist bei einer Verdünnung von 1:32000 aufgetragen.

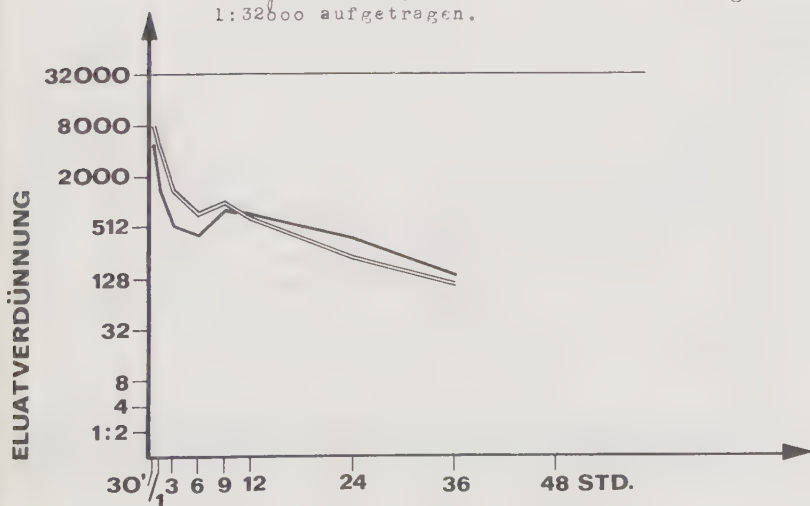


Abb. 2: Mittelwerte der kontrolltiere, aufgetragen wie in Abbildung 1.

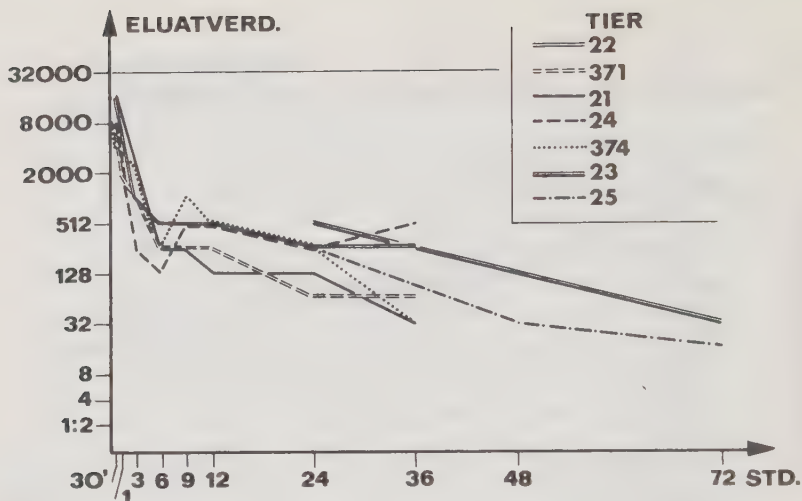


Abb. 3: Einzeldarstellung der gegen Albumin sensibilisierten Tiere, Titer s. Tabelle 1. Hautelute nach Albumininjektion.

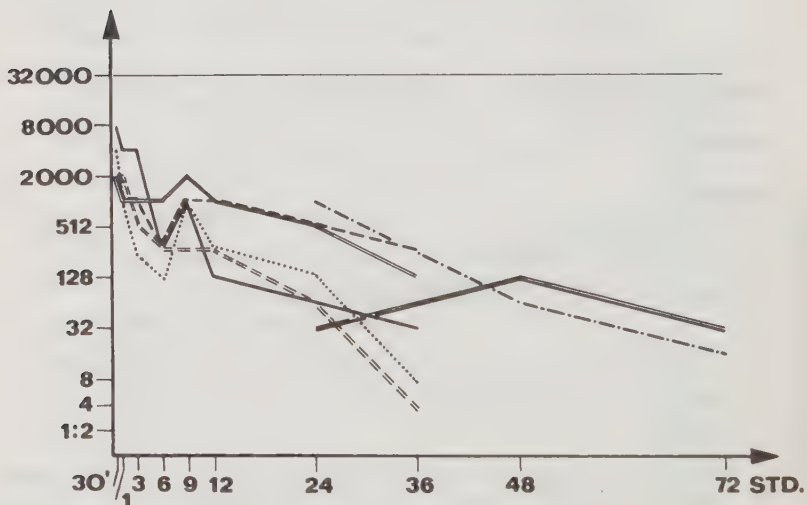


Abb. 4: Einzeldarstellung der gegen γ -Globulin sensibilisierten Tiere, Titer s. Tabelle 1. Hautelute nach Globulininjektion. Aufgetragen wie in Abbildung 3.

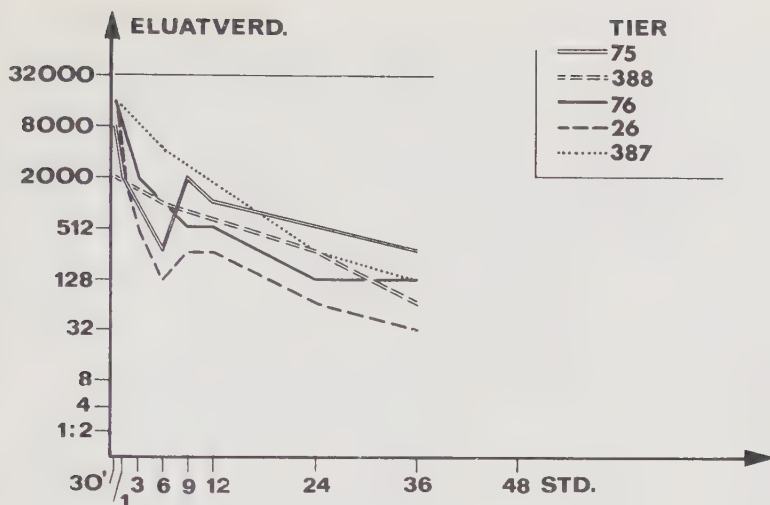


Abb. 5: Einzeldarstellung der Kontrolltiere.
Häuteluerte nach Albumininjektion.

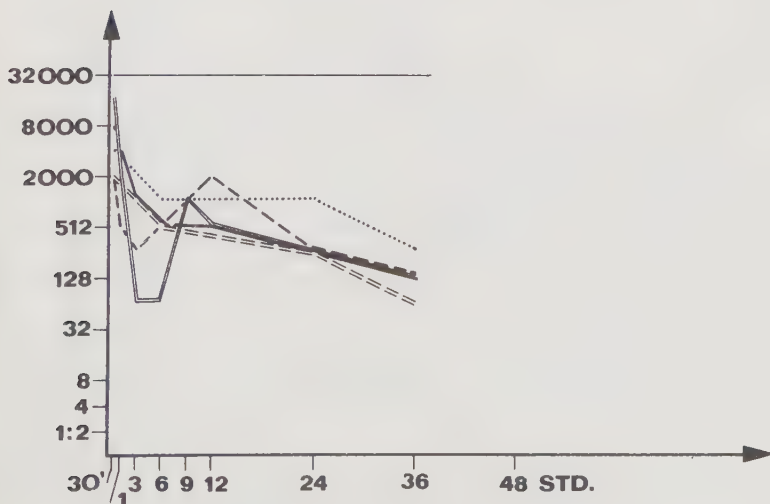


Abb. 6: Einzeldarstellung der Kontrolltiere.
Häuteluerte nach Globulininjektion. Aufgetragen
wie in Abbildung 5.

Tier Nr.	Geschlecht	Gewicht/kg	Sensibilisierung	Titer Anti-Glob. Anti-Mb.	Fremdeiweißapplikation	Sektorentnahme nach												Histologie	Immun- elektro- phorese	Anmer- kungen
26	♀	2,2			2x je 4ccm 10%ige Albuminlösung v. Rind i.c. an 2 Stellen auf einer, 2x je 4ccm 10%ige Globulinlösung vom Rind i.c. auf der anderen Flanke. Einteilung der insgesamt 4 Quadranten in je 4 Sektoren und Entnahme der Haut nach Zeiten.	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
75	♂	2,2				X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
76	♂	2,8				X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	Kontroll einer i.c.- ren v. Ort der An- tigen-Injektion ent- fernten Hautstelle.
387	♂	2,8				X		X		X	X			X		X		X	X	
388	♀	2,9				X			X			X		X				X	X	
21	♀	3,1	i.v. und i.p.	1:1024	∅	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
22	♂	2,8	aber 4 Ho- nate	1:32000	1:2000	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
24	♀	2,0	3 Wo- chen i.v.	1:8000	∅	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
371	♀	1,9	über 5 Wo- chen i.m. und i.p.	1:32000	1:64	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
374	♂	1,65		1:32000	1:32000	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
23	♂	2,4	3 Wo- chen i.v.	1:16000	∅	X					X			X		X		X	X	wie Tier 76
25	♀	1,9		1:4000	∅	X					X			X		X		X	X	wie Tier 76

wie Tiere Nr. 26, 75, 76

3x 1ccm 10%ige Albumin- und Globulinlösung i.c. an 3 Stellen auf jeder Flanke. Einzelinjektionen, Hautentnahme nach längerer Laufzeit

Literaturverzeichnis

- 1) Rössle, R.:
Über die Merkmale der Entzündung im allergischen Organismus, Verh. Dt. Pathol. Ges. 1914, 17, 281
- 2) Fröhlich, A.:
Über lokale und gewebliche Anaphylaxie,
Zschr. Imm.forsch. 20, 476 (1914)
- 3) Letterer, E.:
Versuche über Umstimmung der Gewebsreaktion nach wiederholter Injektion von arteigenem Eiweiß,
Verh. Dt. Pathol. Ges. 1931, 26, 199
- 4) Opie, E.:
The fate of antigen (protein) in an animal immunized against it, J. of Exp. Med. 39, 659 (1924)
- 5) Opie, E.:
The relation of antigen to antibody (Precipitin) in the circulating blood, J. Immunol. 8 (1923)
- 6) Vogt, A.:
Ref. 7.Tg. Dt. Ges. Allergieforsch. 8.-10.10.1959,
Bad Lippspringe (zit. nach Lindlar)
- 7) Korngold, L., G. Stahly, M. Dodd and W. Meyers:
The comparative retention of antigen in the skin of immune and normal rabbits as determined with egg albumin labelled with radioactive iodine,
J. Immunol. 70, 345 (1953)
- 8) Menkin, V.:
Studies of inflammation: IV: Fixation of foreign protein at site of inflammation, J. Exp. Med. 52, (1930)
- 9) Iijima, S.:
Die Durchblutungsstörungen am Kaninchenohr bei allgemeiner und lokaler Anaphylaxie mit intravitalen Photo-

grammen, Beitr.path. Anat. u.allg. Path.118,67(1957)

- 10) Lindlar, F. und Vogt, A.:
Über den Abbau von Fremdeiweiß in der Haut sensibili-
sierter und nichtsensibilisierter Kaninchen,
Acta allergol. XV, 271 (1960)
- 11) Lindlar, F. und Vogt, A.:
Die Bedeutung der Gegenwart von Zellen und spezifi-
schem Antikörper für den Abbau von Antigeneiweiß in
vitro, Acta allergol. XVII, 66 (1962)
- 12) Sorkin, E. and S. Boyden:
Studies on the fate of antigens in vitro,
J. Immunol. 82, 332 (1959)
- 13) Cochrane, Ch., W. Weigle and F. Dixon:
The role of polymorphnuclear leukocytes in the ini-
tiation and cessation of the Arthus-vasculitis,
J. Exp. Med. 110, 481 (1959)
- 14) Letterer, E.:
Über das Arthus-Phänomen,
In: Immunopathologie 1.Int.Symposium Basel-Seelis-
berg 1958, Hrsg. P.Grabar, Paris; P.Miescher, Basel.
B. Schwabe und Co. Verlag Basel/Stuttgart
- 15) Scheiffarth, F., H. Götz und A. Dutschke:
Vergleichende Untersuchungen über die antigene Wirk-
samkeit verschiedener gereinigter Serumprotein-Frak-
tionen, Ztschr.Naturforschung 156, 517 (1960)
- 16) Letterer, E.:
Die allergisch-hyperergische Entzündung, In Handbuch
d. Allgem. Pathologie. Hrsg. von F.Büchner, E.Lette-
rer, F.Roulet Bd.VII, 1: Entzündung und Immunität.
- 17) Gell, P. and I. Hinde:
Observations on the histology of the Arthus-reaction

and its relation to other known types of skin hypersensitivity, *Int.Arch. Allergy* 5, 23 (1954)

18) Sabesin, S. and W. Banfield:

Electron microscopy of hypersensitivity reactions: the Arthus-Phenomenon, *Am.J.Pathol.* 42, 551 (1963)

19) Movat, H. and N. Fernando:

Allergic inflammation.I. The earliest fine structural changes at the blood-tissue barrier during antigen-antibody interaction, *Am.J.Pathol.* 42, 41 (1963)

20) Fernando, N. and H. Movat:

Allergic inflammation. II. Identification of antigen-antibody-complexes with the electron microscope during the early phase of allergic inflammation, *Am. J. Pathol.* 43, 381 (1963)

21) Heremans, J.F.:

Die Immunelektrophorese und ihre klinische Bedeutung, In: *Ergebnisse der Inneren Medizin und Kinderheilkunde*, Bd.20, 1963 Spring.Verlag Berlin, Heidelberg, New York

22) Schwick, H.G.:

Quantitative Immunpräzipitation zur Bestimmung einzelner Plasmaproteine, In: *Immunchemie.* 15. Colloquium d.Ges. f. Phys. Chemie in Mosbach/Bad. 1964 Spring.Verlag Bla., Heidelberg, New York

23) Letterer, E.:

Abgrenzung des allergischen und toxischen Geschehens in morphologischer und funktioneller Sicht, *Arch.klin.exp. Dermatologie* 213, 277 (1961)

24) Cochrane, Ch.:

La technique des anticorps fluorescents applications a la microbiologie et au phenomene d'Arthus, *Ann.Inst.Pasteur (Paris)* 99, 329 (1960) Ref.in *Ztbl. ges. inn. Med.* 221, 116 (1961)

- 25) Cochrane, Ch. and W. Weigle:
The cutaneous reaction to soluble antigen-antibody complexes, A comparison with the Arthus-phenomenon,
J. Exp. Med. 108, 591 (1958)
- 26) Cochrane, Ch. and H. Levenson:
Comparison of nonprecipitating and precipitating antibody in provoking Arthus necrotizing vasculitis
Am. J. Pathol. 43 (1963)
- 27) Humphrey, J.:
The mechanism of Arthus-reactions. I. The role of polymorphnuclear leucocytes and other factors in reversed passive Arthus reactions in rabbits,
Brit. J. Exp. Pathol. 36, 269 (1955)
- 28) Humphrey, J.:
The mechanism of Arthus-reactions. II. The role of polymorphnuclear leucocytes and platelets in reversed passive reactions in the guinea-pig,
Brit. J. Exp. Pathol. 36, 283 (1955)
- 29) Oppenheim, M.:
Beiträge zur Frage der Hautabsorption mit besonderer Berücksichtigung der erkrankten Haut,
Arch. Dermatol. 93, 85 (1908)
- 30) Gerlach, W.:
Studien über hyperergische Entzündung,
Virch. Arch. 247, 294 (1923)
- 31) Letterer, E.:
Morphische Folgen der Antigen-Antikörper-Reaktion
Verh. Dt. Ges. Path. 46, 83 (1962)
- 32) Movat, H.:
Antigen-Antikörper-Komplexe und allergische Entzündung, Verh. Dt. Ges. Path. 46, 48 (1962)

- 33) Goddard, J.W.:
Vascular changes in the Arthus-Phenomenon,
Arch. Pathol. 66, 384 (1958)
- 34) Benacerraf, B. and E. Kabat:
A quantitative study of the Arthus-Phenomenon induced passively in the guinea pig,
J. Immunol. 64, 1 (1950)
- 35) Fischel, E. and E. Kabat:
A quantitative study of the Arthus-Phenomenon induced passively in the rabbit,
J. Immunol. 55, 337 (1947)
- 36) Opie, E.:
Inflammatory reaction of the immune animal to antigen (Arthus-Phenomenon) and its relation to antibodies, J. Immunol. 9, 231 (1924)

Dankesworte

Herrn Prof. Dr. med. W. Maßhoff danke ich für die Überlassung des Themas und die geduldige Überwachung des Fortganges der Arbeit.

Herrn Dr. med. U. Gross gilt mein Dank für seine freundliche Beratung und Unterstützung.

L e b e n s l a u f

Am 13. Dezember 1937 wurde ich, Christian Witte, als Sohn des Studienrats Ernst Witte und seiner Ehefrau Christel, geb. Blume, in Ratibor /O.S. geboren.

Die Volksschule besuchte ich in Ratibor und nach unserer Flucht in Halle /Saale und in der Lutherstadt Wittenberg. Meine Reifeprüfung legte ich an der Lucas - Granach - Oberschule in Wittenberg - Piesteritz ab.

Nach Absolvierung eines 13. Schuljahres (Sonderlehrgang für Ost-Abiturienten) am Goethe - Gymnasium in Berlin - Wilmersdorf studierte ich vom Wintersemester 1956/57 bis zu meinem Staatsexamen im April 1963 Medizin an der Freien Universität Berlin. Zur Zeit arbeite ich als Assistenzarzt an der Chirurgischen Klinik im Städtischen Krankenhaus Berlin - Neukölln.

